BEOBACHTUNGEN

UBER DIE HEFEARTEN UND ZUCKERBILDENDEN PILZE

DER ARACKFABRIKATION

VON

Dr. F. A. F. C. WENT und H. C. PRINSEN GEERLIGS.

Bei einer Untersuchung, welche wir anstellten über die Arackfabrikation, hauptsächlich um eine bessere Bearbeitung der Nachprodukte der Rohrzuckerfabriken auf Java zu begründen, ergaben sich auch einige wissenschaftlich interessante Resultate. Während wir unsere Untersuchungen, insofern sie für die Praxis von Nutzen sein können, schon veröffentlichten [1]), wollen wir sie hier in erweiterter, mehr wissenschaftlicher Form mittheilen. Da unser Arbeitskreis hauptsächlich auf praktischem Gebiet liegt, so bleibt uns wenig Zeit, um uns eingehend mit theoretischen Erörterungen zu beschäftigen ; deshalb konnten wir leider auch verschiedene Fragen nur ganz oberflächlich behandeln, sodasz es der weiteren Forschung überlassen bleibt hier vollkommene Klarheit zu bringen.

Zum besseren Verständnisz der hier mitgetheilten Thatsachen, müssen wir erst eine kurze Uebersicht der Arackfabrikation vorausschicken. Wir stützen uns dabei auf die ausführliche Beschreibung, welche VORDERMAN von der Sache gegeben hat, wobei auch die Organismen, welche dabei im Spiel kommen, vorläufig beschrieben sind [2]).

Arack entsteht durch Gährung von zuckerhaltigen Flüssigkeiten. Dazu wird auf Java hauptsächlich benutzt die Melasse, welche in den Rohrzuckerfabriken übrig bleibt, woraus also keine Saccharose mehr auskrystallisiren kann. Diese enthält zwischen 25 und 40 pCt.

---

[1]) Archief voor de Javasuikerindustrie, II. 1894.

[2]) A. G. VORDERMAN. Analecta op Bromatologisch Gebied I, Geneeskundig Tijdschrift voor Nederl. Indië, Dl. XXXIII. 1893. p. 359—384.

Saccharose, 8—16 pCt. Dextrose und 6—16 pCt. Laevulose [1]). Eine feinere Arackart wird aus Reis gemacht, und zwar meistens aus dem sogenannten Klebreis, Oryza glutinosa (auf Java Kētan genannt). Um die Reisstärke in Zucker überzuführen wird aber keine Diastase benutzt, sondern derselbe Stoff, der auch die Hefe enthält, welche zur Alcoholgährung dient. Dieser Stoff wird auf Java *Ragi* genannt, und wird dort auf jedem Markt verkauft. Es sind weisse Kugeln, welche oft etwas abgeplattet sind, mit einem Durchmesser von etwa 3 cM. Die Art und Weise, wie dieser Ragi gemacht wird, werden wir später kennen lernen. Nur musz hier gleich die Haupteigenschaft dieses Stoffes hervorgehoben werden, nämlich, dasz er im Stande ist aus Reis und anderen stärkehaltigen Producten Zucker zu bilden und diesen Zucker wieder zu Alcohol zu vergähren. Die Eingeborenen Java's benutzen diese Eigenschaften zur Bereitung von zwei Genuszmitteln: „Tapej" und „Brēm".

Um Tapej zu machen wird Reis oder Klebreis erst gut gekocht, darauf in dünner Schicht ausgebreitet auf flache geflochtene Schalen, aus Bambu gemacht, und zuletzt bestreut mit Ragi, welcher zwischen den Fingern zerkleinert ist. Darauf wird die Schale an eine kühle Stelle hingesetzt, nachdem sie mit Bananenblättern gedeckt ist. Nach zweimal 24 Stunden etwa ist Tapej entstanden, eine halb flüssige, schmutzig-weisse Masse, welche einen nicht unangenehmen süss-säuerlichen Geschmack hat.

Zur Bereitung von Brēm wird wieder aus Klebreis und Ragi Tapej gemacht, wozu man die Masse jetzt aber 3 × 24 Stunden stehen läszt. Darauf wird die Masse ausgepresst und der Saft mittels Sonnenhitze eingedampft bis ein syrupartiges Product übrigbleibt. Dieser Syrup wird in kleine kegelförmige von Bananenblättern verfertigte Dütchen gebracht, worin sie bei Abkühlung zu einer festen Masse erstarrt. In jedem Dütchen steckt ein Reishalm, und verschiedene dieser Halme werden zusammengebunden auf dem Markt verkauft. Brēm ist eine weisze Masse, welche süss schmeckt, mit etwas säuerlichem Beigeschmack.

Um den gewöhnlichen Arack zu fabriciren aus Melasse, wird zuerst Tapej aus den billigsten Reissorten gemacht. Nach 2 × 24 Stunden wird dieser Tapej in Gefässe gebracht, worin sich mit Wasser verdünnte Melasse befindet. Nach 24 Stunden wird diese Masse gut umgerührt und in einem gröszeren Kübel wieder mit

---

[1]) Siehe H. C. Prinsen Geerligs. De melassevormende bestanddeelen bij de Rietsuikerfabrikatie. Mededeelingen van het Proefstation West-Java 1892; auf Englisch erschienen in Sugar Cane, Vol. XXV 1893, p. 146, 228, 314, 350, 399, 476, 507, 598.

verdünnter Melasse gemischt. Die Masse geräth in Gährung, wird aber jetzt 24 Stunden später wieder in die eigentlichen groszen Gährkübel gebracht, worin sich verdünnte Melasse befindet. Hier findet eine sehr stürmische Gährung statt, welche nach etwa 4 Tagen abgelaufen ist. Dann wird die gährende Flüssigkeit in erdene Töpfe übergeführt, worin während 8 Tagen noch eine schwache Nachgährung stattfindet; nachher kann der Arack abdestillirt werden.

Das oben mitgetheilte möge genügen für unsren Zweck, dem Leser eine Idee von der Arackfabrikation zu geben; wer mehr davon wissen will, lese die ausführliche Abhandlung VORDERMAN's Nur müssen wir noch darauf hinweisen, dasz die Gährung nicht überall in derselben Weise stattfindet. Das oben mitgetheilte gilt speciell für die Arackfabriken Batavia's; an anderen Stellen Java's, z. B. hier in Tegal geht die Gährung viel langsamer von Statten, was scheinbar davon herrührt, dasz ein anderer Hefepilz benutzt wird (siehe später) wodurch auch der Arack von viel geringerer Qualität ist. Dasz die feinsten Arackarten ausschlieszlich aus Reis oder Klebreis hergestellt werden, haben wir oben schon mitgetheilt. Ein ähnliches alkoholisches Getränk scheint in Cochin-China bereitet zu werden, nach den Mittheilungen CALMETTE's [1]). Auch wird ein ähnlicher Stoff wie Ragi dazu benutzt, von CALMETTE „levure chinoise" genannt. Wir werden Gelegenheit haben auf die Aehnlichkeit und die Differenzen zwischen beiden noch verschiedene Male hinzuweisen.

Bevor wir den Ragi näher studiren, wollen wir untersuchen, welcher Zucker aus Reis oder Klebreis gebildet wird. Das war aus der Zusammensetzung von Brem abzuleiten.

Sowohl die FEHLING'sche als die BARFOED'sche Lösung werden von Brem stark reducirt. Daraus ergibt sich, dasz der entstandene Zucker nicht Maltose sein kann, da diese wohl die FEHLING'sche, aber nicht die BARFOED'sche Lösung verändert. Zur quantitativen Untersuchung wurde Brem mit Alcohol extrahirt, wobei 10,63 pCt. Dextrin ungelöst übrig blieb. Die alcoholische Lösung wurde vorsichtig eingedampft, schlieszlich in einem Exsiccator über Schwefelsäure. Nach einigen Tagen wurde die syrupartige Masse zu einem Krystallbrei, der aus Methylalcohol umkrystallisirt, schöne Krystalle lieferte. Die Lösung dieser Krystalle reducirte sowohl das FEHLING'sche wie das BARFOED'sche Reagens.

0,250 Gramm der gut getrockneten Krystalle zu einem Volum von 100 cM^3 in Wasser gelöst, gaben eine Flüssigkeit, von der genau

---

[1]) CALMETTE. La levure chinoise. Annales de l'Institut Pasteur. T. VI. p. 604. 1892.

Saccharose, 8—16 pCt. Dextrose und 6—16 pCt. Laevulose [1]). Eine feinere Arackart wird aus Reis gemacht, und zwar meistens aus dem sogenannten Klebreis, Oryza glutinosa (auf Java Kētan genannt). Um die Reisstärke in Zucker überzuführen wird aber keine Diastase benutzt, sondern derselbe Stoff, der auch die Hefe enthält, welche zur Alcoholgährung dient. Dieser Stoff wird auf Java *Ragi* genannt, und wird dort auf jedem Markt verkauft. Es sind weisse Kugeln, welche oft etwas abgeplattet sind, mit einem Durchmesser von etwa 3 cM. Die Art und Weise, wie dieser Ragi gemacht wird, werden wir später kennen lernen. Nur musz hier gleich die Haupteigenschaft dieses Stoffes hervorgehoben werden, nämlich, dasz er im Stande ist aus Reis und anderen stärkehaltigen Producten Zucker zu bilden und diesen Zucker wieder zu Alcohol zu vergähren. Die Eingeborenen Java's benutzen diese Eigenschaften zur Bereitung von zwei Genuszmitteln: „Tapej" und „Brëm".

Um Tapej zu machen wird Reis oder Klebreis erst gut gekocht, darauf in dünner Schicht ausgebreitet auf flache geflochtene Schalen, aus Bambu gemacht, und zuletzt bestreut mit Ragi, welcher zwischen den Fingern zerkleinert ist. Darauf wird die Schale an eine kühle Stelle hingesetzt, nachdem sie mit Bananenblättern gedeckt ist. Nach zweimal 24 Stunden etwa ist Tapej entstanden, eine halb flüssige, schmutzig-weisse Masse, welche einen nicht unangenehmen süss-säuerlichen Geschmack hat.

Zur Bereitung von Brëm wird wieder aus Klebreis und Ragi Tapej gemacht, wozu man die Masse jetzt aber 3 × 24 Stunden stehen läszt. Darauf wird die Masse ausgepresst und der Saft mittels Sonnenhitze eingedampft bis ein syrupartiges Product übrigbleibt. Dieser Syrup wird in kleine kegelförmige von Bananenblättern verfertigte Dütchen gebracht, worin sie bei Abkühlung zu einer festen Masse erstarrt. In jedem Dütchen steckt ein Reishalm, und verschiedene dieser Halme werden zusammengebunden auf dem Markt verkauft. Brëm ist eine weisze Masse, welche süss schmeckt, mit etwas säuerlichem Beigeschmack.

Um den gewöhnlichen Arack zu fabriciren aus Melasse, wird zuerst Tapej aus den billigsten Reissorten gemacht. Nach 2 × 24 Stunden wird dieser Tapej in Gefässe gebracht, worin sich mit Wasser verdünnte Melasse befindet. Nach 24 Stunden wird diese Masse gut umgerührt und in einem gröszeren Kübel wieder mit

---

[1]) Siehe H. C. Prinsen Geerligs. De melassevormende bestanddeelen bij de Rietsuikerfabrikatie. Mededeelingen van het Proefstation West-Java 1892; auf Englisch erschienen in Sugar Cane, Vol. XXV 1893, p. 146, 228, 314, 350, 399, 476, 507, 598.

verdünnter Melasse gemischt. Die Masse geräth in Gährung, wird aber jetzt 24 Stunden später wieder in die eigentlichen groszen Gährkübel gebracht, worin sich verdünnte Melasse befindet. Hier findet eine sehr stürmische Gährung statt, welche nach etwa 4 Tagen abgelaufen ist. Dann wird die gährende Flüssigkeit in erdene Töpfe übergeführt, worin während 8 Tagen noch eine schwache Nachgährung stattfindet; nachher kann der Arack abdestillirt werden.

Das oben mitgetheilte möge genügen für unsren Zweck, dem Leser eine Idee von der Arackfabrikation zu geben; wer mehr davon wissen will, lese die ausführliche Abhandlung VORDERMAN's Nur müssen wir noch darauf hinweisen, dasz die Gährung nicht überall in derselben Weise stattfindet. Das oben mitgetheilte gilt speciell für die Arackfabriken Batavia's; an anderen Stellen Java's, z. B. hier in Tegal geht die Gährung viel langsamer von Statten, was scheinbar davon herrührt, dasz ein anderer Hefepilz benutzt wird (siehe später) wodurch auch der Arack von viel geringerer Qualität ist. Dasz die feinsten Arackarten ausschlieszlich aus Reis oder Klebreis hergestellt werden, haben wir oben schon mitgetheilt. Ein ähnliches alkoholisches Getränk scheint in Cochin-China bereitet zu werden, nach den Mittheilungen CALMETTE's [1]). Auch wird ein ähnlicher Stoff wie Ragi dazu benutzt, von CALMETTE „levure chinoise" genannt. Wir werden Gelegenheit haben auf die Aehnlichkeit und die Differenzen zwischen beiden noch verschiedene Male hinzuweisen.

Bevor wir den Ragi näher studiren, wollen wir untersuchen, welcher Zucker aus Reis oder Klebreis gebildet wird. Das war aus der Zusammensetzung von Brem abzuleiten.

Sowohl die FEHLING'sche als die BARFOED'sche Lösung werden von Brem stark reducirt. Daraus ergibt sich, dasz der entstandene Zucker nicht Maltose sein kann, da diese wohl die FEHLING'sche, aber nicht die BARFOED'sche Lösung verändert. Zur quantitativen Untersuchung wurde Brem mit Alcohol extrahirt, wobei 10,63 pCt. Dextrin ungelöst übrig blieb. Die alcoholische Lösung wurde vorsichtig eingedampft, schlieszlich in einem Exsiccator über Schwefelsäure. Nach einigen Tagen wurde die syrupartige Masse zu einem Krystallbrei, der aus Methylalcohol umkrystallisirt, schöne Krystalle lieferte. Die Lösung dieser Krystalle reducirte sowohl das FEHLING'sche wie das BARFOED'sche Reagens.

0,250 Gramm der gut getrockneten Krystalle zu einem Volum von 100 cM^3 in Wasser gelöst, gaben eine Flüssigkeit, von der genau

---

[1]) CALMETTE. La levure chinoise. Annales de l'Institut Pasteur. T. VI. p. 604. 1892.

20 cM³ 10 cM³ Fehling'sche Lösung reducirten. Das war also die Ziffer von Glucose, Laevulose und Invertzucker. Bei der Polarisation ergab sich als spezifische Drehung + 74,8 [αD]. Wurde die Flüssigkeit aber während einiger Zeit auf 100° erwärmt, dann wieder abgekühlt und polarisirt, so sank die Drehung bis + 52,4 [αD] also gerade so wie bei Dextrose, mit welchem Stoff die Krystalle auch übereinstimmten durch ihre erhöhte Rechtsdrehung gleich nach der Lösung.

Die entstandene Zuckerart war also Dextrose, und als jetzt Brem weiter in der bekannten Weise untersucht wurde, ergab sich folgende Zusammensetzung:

Dextrose	69,02
Dextrin.	10,63
Asche	1,20
Wasser.	18,75
Unbekannt	0,39
	100,—

Betrachten wir jetzt Ragi mikroskopisch etwas näher: es ergiebt sich dann, dasz er zusammengesetzt ist aus Reisstärke, zwischen welcher sich Bacteriën, viele Hefezellen und Fragmente eines Pilzes befinden. Die Pilzfragmente bestehen aus Mycelfäden und groszen, stark lichtbrechenden Kugeln dazwischen. Die Bacteriën scheinen sich in den Arackfabriken bisweilen derart zu vermehren, dasz die Gährung verhindert wird; übrigens sind sie Beimischungen, welche auszer Betrachtung bleiben können; ihre Anzahl ist verhältniszmäszig sehr gering. Es ergab sich bei der weiteren Untersuchung bald, dasz die Hefezellen die ausschlieszlichen Alcoholbildner sind, während nur dem Pilz die Fähigkeit zukommt, aus Stärke Dextrose zu bilden; in dieser Hinsicht also eine vollkommene Uebereinstimmung mit der „levure chinoise" CALMETTE's. Wir wollen also Hefe und Pilz gesondert behandeln, müssen uns aber erst abfragen, wie Ragi gemacht wird.

Bei der Zubereitung dienen verschiedene Ingredienzen, so z. B. nach VORDERMAN [1]) in Buitenzorg: 1. Drei Internodiën des Zuckerrohrs, am Besten aus dem unteren Theile des Stengels, der den meisten Zucker enthält. 2. Das Rhizom von Alpinia Galanga. Diese beiden werden in kleine Stücke zertheilt und mit Reismehl ver-

[1]) VORDERMAN, l. c. p. 359.

mischt, in der Sonne getrocknet, dann mit drei zerkleinerten Zwiebeln von Knoblauch gemischt und nachher mit dem Saft einer halben Frucht von Citrus limonellus zu einem Brei gestampft. Nach drei Tagen werden die gröszeren Pflanzentheile weggenommen, das Wasser wird abgegossen und der übriggebliebene Brei zu runden Kugeln geknetet, welche man in der Sonne trocknen läszt. In andern Theilen Java's werden die Kugeln zwischen Reisstroh gelegt, auch wird wohl fein gehacktes Reisstroh hineingeknetet.

Da es uns schien, dasz der Reis hier Hauptsache war, so versuchten wir Ragi zu machen aus Reismehl mit etwas zuckerhaltigem Wasser, worauf der in dieser Weise entstandene Brei, zu Kugeln geknetet, zwischen Reisstroh gelegt wurde. Wirklich entstand jetzt auch Ragi, worin aber noch ein zweiter Pilz auftrat, der ebenfalls ein Dextrosebildner ist, und den wir hier unten ausführlich beschreiben werden.

Die Organismen des Ragi sind nämlich auf Reisstroh zu finden; wir konnten sie alle von diesem Material isoliren. Die weiteren Zugaben dienen also wohl nur dazu, ein Nährmedium für diese Organismen herzustellen. Man braucht sich übrigens nicht zu wundern, dasz in der Vorschrift VORDERMAN's der Reisstroh nicht genannt ist, wenn man weisz, in welcher nächlässigen Art das Reismehl hier gemacht wird, sodasz die Keime der Organismen sich auch auf dem Mehl vorfinden müssen.

Im Zusammenhang mit diesem Befund ist die Angabe VORDERMAN's [1]) interessant, dasz in seltenen Fällen in den Arackfabriken kein Ragi benutzt wird; da leitet man die Gährung ein, indem ungeschälte Reiskörner mit Wasser verdünnter Melasse zugesetzt werden.

Nach der Mittheilung CALMETTE's [2]) sind auch die Organismen der „levure chinoise" im wilden Zustand an der Auszenseite der Reispflanze zu finden.

Wir wenden uns jetzt zuerst zu den Hefezellen.

Es stellte sich bald heraus, dasz mehrere Hefearten im Ragi zu finden sind; eine davon, welche wir im nachstehenden als Monilia javanica werden kennen lernen, ist vorherrschend, andere Arten kommen seltener vor. Wir werden auszer dieser Monilia noch eine andere Hefe beschreiben, weil dieselbe in Reinkultur einen sehr werthvollen Arack liefert, und wie es scheint, auch in Batavia

---

[1]) VORDERMAN l. c. p. 370.

[2]) CALMETTE l. c. p. 611, 612.

hauptsächlich Ursache der Gährung ist; da wir indessen nur einen ganz kurzen Besuch an eine Arackfabrik Batavia's brachten, so können wir letzteres nicht mit vollkommener Sicherheit behaupten. Soviel kann aber wohl gesagt werden, dasz, wenn man eine Flüssigkeit met Ragi in Gährung bringt, und etwas von dieser gährenden Masse, wenn die Gährung kaum angefangen, in eine neue Flüssigkeit bringt, und man wiederholt diesen Prozesz einige Male, sich hauptsächlich diese zweite Hefeart auf Kosten der Monilia javanica entwickelt. In ähnlicher Weise wird ja auch in den Arackfabriken Batavia's gearbeitet, wie oben schon mitgetheilt wurde. Dasz die Mehrzahl der Hefezellen bei Ragi zu Monilia javanica gehört, ergiebt sich schon aus der mikroskopischen Beobachtung, aber auch aus Kulturversuchen. Wenn man ein weinig Ragi feinpulvert, in Zuckerwasser vertheilt, und über eine Agarplatte (mit den nöthigen Nährsalzen) ausgieszt, so kommen vielleicht auf 100 Koloniën von Monilia javanica 4 oder 5 Koloniën von der anderen Hefeart. Wir wollen jetzt zuerst Monilia javanica bescheiben; natürlich wurden zu allen Versuchen absolute Reinkulturen verwendet, die ursprünglich von *einer* Zelle aus entstanden waren.

Monilia javanica.

Makroskopisches Aeuszere.

Wenn man in einen Kolben mit zuckerhaltiger Nährflüssigkeit einige Zellen dieser Hefe bringt, so bleiben diese auf der Oberfläche der Flüssigkeit schwimmen, und bilden, wenn sie sich vermehren, nach 1 bis 2 Tagen eine Kahmhaut. Darauf wird die Kahmhaut gekräuselt und steigt auch an die Wand des Kolbens etwas über die Flüssigkeit empor. Zugleicherzeit sinken eine Anzahl Hefezellen bis auf den Boden des Gefäszes. Bald tritt jetzt Gährung ein, grosze Kohlensäureblasen heben die Kahmhaut empor und zerbrechen sie zuletzt; nach etwa 10 Tagen ist die Gährung abgelaufen.

Zieht man die Hefe auf Agar-agarplatten, denen Zucker und die nöthigen Nährsalze zugesetzt sind, so breitet sie sich in dünner Schicht rasch auf der Oberfläche des Agar-agars aus, wobei der Rand, wo die Kolonie weiter wächst, erst eine schwach gebogene Linie ist; später enstehen aber Ausstülpungen an diesem Rande, sodasz die ganze Kolonie wie mit Franzen umgeben ist. Bei schwacher Vergröszerung scheinen diese Franzen aus durcheinander geschlungenen Pilzfäden zu bestehen.

Zieht man die Hefe auf Klebreis, welchen man erst mit Hülfe des Pilzes, der unten beschrieben wird, halb verflüssigt und in

Dextrose verwandelt hat, so bildet sich auch hier eine Kahmhaut, aber auszerdem enstehen haarähnliche Auswüchse auf den Reiskörnern, welche auch wieder aus verschlungenen Pilzfäden aufgebaut sind, wie bei schwacher Vergröszerung ersichtlich ist.

Mikroskopisches Aussehen.

Betrachtet man die Hefe aus der Kahmhaut, aus der Mitte der Kolonien auf Agar oder vom Boden der Kulturkolben, so ergeben sich Bilder wie in Fig. 1 *a*—*i* dargestellt, also runde oder birnförmige Hefezellen, welche sich in der gewöhnlichen Art durch Sprossung vermehren, nur bisweilen etwas unregelmäszige Formen (*d*, *i*) annehmen und sogar dann und wann zu Fäden auswachsen können (*e*, *f*). Die Zellen bleiben ziemlich lange an einander befestigt.

Betrachten wir die Franzen der Agarkolonien, oder besser noch die Auswüchse der Reiskörner, so finden wir ein verschlungenes Gewebe von Pilzfäden, sodasz Körper entstehen, wie sie in Fig. 2 im optischen Querschnitt dargestellt sind. Die Mitte der Figur ist etwas schematisirt, da der Verlauf der Fäden unmöglich genau zu skizziren war. An der Peripherie sprossen aus diesen Pilzfäden Hefezellen hervor. Das ist noch deutlicher zu sehen, wenn man einige dieser Fäden frei präparirt, wie in Fig. 3 und 4. Da sieht man auch, dasz die älteren Fäden aus ziemlich fest an einander gefügten Zellen bestehen, während die Zellen der jüngeren Fäden leicht von einander loslassen.

Systematische Stellung.

Aus dem Vorgehenden zeigt sich, dasz dieser Hefepilz wenig Uebereinstimmung hat mit den Arten der Gattung Saccharomyces, wenn man diese im Sinne HANSEN's auffaszt [1]). Ueberzeugend stellte sich das heraus, als die Hefe auf feuchte Gipsblöckchen gezogen wurde und sich trotzdem *keine endogenen Sporen* bildeten. Es scheint uns, dasz diese Hefe nur ein Entwickelungszustand irgend eines höheren Pilzes ist; diesen Pilz zu finden, ist uns aber nicht gelungen. Da die Hefe nun doch einen Namen haben musz, so wird sie wohl am Besten untergebracht in die Gattung Monilia, wo so viele Formen hingestellt werden, mit denen man eigentlich nicht viel zu machen weisz. Dieze Spezies nennen wir dann *Monilia javanica*.

Physiologische Eigenschaften.

Dasz Monilia javanica in zuckerhaltigen Flüssigkeiten Gährung hervorrufen kann, und welches das mikroskopische Aeuszere dieser

---

[1]) Siehe JÖRGENSEN, Die Mikroorganismen der Gährungsindustrie, 3e Aufl. 1892, p. 109 ff.

Gährung ist haben wir schon oben kennen gelernt. Es fragt sich also jetzt, welche Zuckerarten vergohren werden, wieviel Zucker vergohren wird und in welcher Zeit dies geschieht, überdies, welche Stickstoffnahrung dem Pilz zusagt und was neben Alcohol noch gebildet wird. Die Temperatur, wobei unsere Versuche angestellt wurden, war die gewöhnliche Temperatur der Niederungen Java's, also ungefähr 25—30° C., nur Nachts sinkt diese bisweilen bis zu 22°, während sie nicht oft in der Mitte des Tages sich weit über 30° erhebt. Versuche mit höheren Temperaturen schienen uns nicht nöthig, solche mit constanten niederen Wärmegraden sind hier im Laboratorium ohne kostspielige Einrichtungen nicht an zu stellen. Als Stickstoffnahrung wird am liebsten Pepton benutzt, dann kommen Asparagin und Ureum, weiter Nitrate und am wenigsten gern werden Ammoniumsalze (sowohl Sulfate wie Chloride) aufgenommen. Nitrite können gar nicht als Stickstoffnahrung dienen. Das ergab sich zuerst aus der verschieden schnellen Entwickelung der Kahmhaut und der Bildung der Kohlensäureblasen, aber auch war die Menge Zucker, welche in einer bestimmten Zeit vergohren wurde, nicht gleich (wenngleich sich auch am Ende der Gährung kein Unterschied mehr nachweisen liesz, als in der Gährungszeit). So waren z. B. von 5 Gr. Dextrose, welche wir in 100 cM^3 Flüssigkeit gelöst hatten, das eine Mal nach 6 Tagen 2.9 Gr. vergohren, als 1 Gr. NH_4Cl zugesetzt war; das andere Mal ebenso 2.9 Gr. War jedoch 1 Gr. KNO_3 zugesetzt, so waren das eine Mal 4,4 Gr., das andere Mal 5 Gr. Dextrose vergohren.

Gährung findet statt in Lösungen von Dextrose, Laevulose, Maltose, Raffinose und Saccharose (welche erst von der Hefe invertirt wird), dadegen nicht von Lactose. In Lactoselösung findet selbst kein Wachsthum der Hefe statt; ebensowenig, wenn Stärke als Kohlenstoffnahrung gegeben wird. Dagegen wächst die Monilia javanica ohne Gährung zu erregen in Glycerin-, Dextrin- und Amylodextrinlösungen, wenn zwar aus Dextrin und Amylodextrin etwas Alcohol gebildet wird. In Flüssigkeiten welche etwa 5 pCt. Alcohol enthalten, findet kein weiteres Wachsthum und keine Gährung mehr statt.

Um den Verlauf der Gährung weiter kennen zu lernen, wurde eine Lösung von Saccharose in einer peptonhaltigen Nährflüssigkeit hergestellt, in einem groszen Kolben sterilisirt und infizirt mit Monilia javanica. Darauf wurde täglich der Saccharose- und Glucosegehalt in einer kleinen Probe bestimmt und an einigen Tagen auch die Menge Alcohol, welche sich gebildet hatte. Die nachfolgende Tabelle giebt das Resultat, wobei nur noch zu bemerken

ist, dasz die für Alcohol zwischen Klammern gesetzten Ziffern, durch Berechnung gefunden sind.

	Saccharose.	Glucose.	Alcohol.
Anfang des Versuchs	8,53 pCt.	—	—
nach 1 Tage	8,25 „	Spur	Spur
„ 2 Tagen	8,12 „	0,31 pCt.	[0,05] pCt.
„ 3 „	6,92 „	0,12 „	[0,75] „
„ 4 „	4,09 „	1,47 „	[1,49] „
„ 5 „	0,52 „	2,22 „	[2,90] „
„ 6 „	0	1,82 „	3,42 „
„ 7 „	0	1,35 „	3,50 „
„ 8 „	0	0,77 „	[3,88] „
„ 9 „	0	Spur	4,77 „

In einer Wasserstoffatmosphäre findet nur ein sehr spärliches Wachsthum statt und keine oder fast keine Gährung.

Auszer Alcohol werden auch Glycerin und Bernsteinsäure gebildet. Als der gebildete Alcohol abdestillirt wurde, ergab sich ein Product, das keinen sehr angenehmen Geruch und Geschmack hatte.

Das erklärt auch die weniger gute Qualität des Aracks, der auszerhalb Batavia fabricirt wird, da wenigstens hier in der Nähe in einer Arackfabrik, wie wir bei einem Besuch constatiren konnten (aus dem langsamen Verlaufe der Gährung, der Bildung der Kahmhaut) hauptsächlich Monilia javanica der Alcoholbildner ist.

Saccharomyces Vordermannii.

Makroskopisches Aussehen.

Wenn man einige Zellen der zweiten, von uns untersuchten Hefeart welche, wie schon mitgetheilt, in viel geringerer Menge im Ragi gefunden wird als Monilia javanica — in einen Kolben mit einer zuckerhaltigen Nährflüssigkeit bringt, dann sinken diese Zellen auf den Boden des Kolbens und fangen jetzt an sich hier zu vermehren, sodasz sich weisze, wolkige Flecken auf dem Boden bilden und bald eine Schicht Hefezellen dort zu finden ist. Jetzt fängt auch die Gährung an, welche sehr bald so stürmisch wird, dasz die ganze Flüssigkeit in Bewegung geräth durch die aufsteigenden Kohlesäureblasen. Drei bis vier Tage nach Anfang der Gährung ist dieselbe abgelaufen, dann findet nur noch während einiger Tage eine sehr

schwache Nachgährung statt, wobei alle Hefezellen sich wieder auf dem Boden gesammelt haben.

Läszt man den Kolben jetzt stehen, dann bildet sich auch nach Monaten keine Haut, es entwickelt sich nur ein Ring von Hefe da, wo die Oberfläche der Flüssigkeit an die Wand des Gefäszes grenzt; der Ring steigt auch etwas an dieser Wand empor.

Wenn man die Hefe auf Agar-agarplatten (mit den nöthigen Nährstoffen versehen) zieht, dann bildet sich eine dicke Hefeschicht auf der Oberfläche, welche bisweilen bis zu 2 mM. dick werden kann. Der Rand bleibt scharf begrenzt, und ist nicht von Franzen versehen; nur wenn die Kultur einige Monate alt ist, treten auch hier Auswüchse aus dem Rande hervor, wenn auch in viel geringerem Maasze, wie bei Monilia javanica.

Wird die Hefe auf Klebreis gezogen, der mit dem näher zu beschreibendem Pilz halb verflüssigt und in Dextrose übergeführt ist, dann zeigen sich die Eigenthümlichkeiten der Monilia javanica nicht. Es tritt eine Gährung ein, aber die Hefezellen selbst sind schwer sichtbar in der weiszen Reismasse.

Mikroskopisches Aeuszere.

Wenn man aus einer eben in Gährung gerathenen Flüssigkeit die Bodensatzhefe untersucht, so ergibt sich ein Bild, wie solches in Fig. 5 abgebildet ist. Die birnförmigen oder rundlichen Hefezellen liegen meist alle lose neben einander, nur die jüngsten, eben durch Sprossung entstandenen Zellen bleiben noch mit der Mutterzelle verbunden. Nimmt man dagegen die Probe aus dem Schaum einer in voller Gährung befindlichen Flüssigkeit, dann sieht man, wie in Fig. 6, dasz die Zellen mehr länglich sind und öfter mit einander verbunden bleiben. Wie oben schon mitgetheilt, bildet sich in alten Kulturen ein Ring von Hefe an der Oberfläche der Flüssigkeit. Diese Zellen sind, wie aus Fig. 7 ersichtlich ist, kleiner und etwas eckiger wie die der Fig. 5; dabei findet man immer mehrere zu Zellcomplexen mit einander verbunden. Wenn man die Auswüchse an sehr alten Agarkulturen unter dem Mikroskop betrachtet, sieht man Bilder wie die Fig. 8 und 9 (8 bei schwacher Vergröszerung); langgedehnte Zellen liegen fadenförmig an einander gereiht und sind an ihren Ansatzstellen von einer Anzahl Hefezellen umgeben.

Zieht man die Hefe auf Gipsblöckchen, so bilden sich bald Sporen, welche auch sonst wohl in Kulturen auftreten (Fig. 10). Es scheint, dasz immer 4 Sporen in einer Zelle gefunden werden, wir haben wenigstens nie eine andre Zahl beobachtet. Die Keimung der Sporen konnte unter dem Mikroskop beobachtet werden.

Systematische Stellung.

Aus dem Vorhergehenden, besonders aus der Sporenbildung, ergiebt sich, dasz diese Hefe zur Gattung *Saccharomyces* im Sinne HANSEN's gehört. Wir nennen diese Art, welche sich von allen bis jetzt beschriebenen Arten unterscheidet, *Saccharomyces Vordermannii* [1]).

Wir möchten hier noch bemerken, dasz es uns unbekannt ist, ob Monilia javanica und Saccharomyces Vordermannii auch in der „levure chinoise" Hinter-Indiens vorkommen, da CALMETTE die darin auftretenden Hefearten nicht näher beschrieben hat.

Physiologische Eigenschaften.

Wie die Gährung, durch Saccharomyces Vordermannii verursacht, verläuft, was ihre äussere Erscheinung anbetrifft, haben wir bereits oben geschildert. Dazu musz noch bemerkt werden, dasz die Gährung viel langsamer stattfindet, wenn eine eben sterilisirte Flüssigkeit infizirt wird, als wenn man eine solche Flüssigkeit erst längere Zeit stehen läszt. In einer Wasserstoffatmosphäre wächst die Hefe und findet auch Gährung statt.

Von Stickstoffnahrung wird von den untersuchten Stoffen am liebsten Pepton benutzt, weiter in absteigender Reihe Asparagin, Ammoniumsalze und Ureum. Nitrate und Nitrite können nicht als Stickstoffnahrung dienen.

Gährung findet statt in Lösungen von Maltose, Raffinose, Laevulose, Dextrose und Saccharose (welche erst von der Hefe invertirt wird. Lactose und Dextrin werden nicht vergohren. Dagegen findet ein schnelles Wachsthum der Hefe statt, wenn als kohlenstoffhaltige Nahrung Dextrin verabreicht wird; ein schwaches Wachsthum, wenn Milchzucker oder Glycerin als solche benutzt werden. Stärke und Amylodextrin können nicht als Kohlenstoffnahrung dienen.

In Flüssigkeiten, welche etwa 9—10 pCt. Alcohol enthalten, hört die Gährung auf. Das geht z. B. aus folgendem Versuch hervor. Drei Kolben wurden gefüllt mit Nährlösungen, welche verschiedene Mengen Zucker enthielten, und nachdem sie sterilisirt waren, mit einer kleinen Anzahl Hefezellen infizirt.

Als die Gährung eingetreten war (was erst nach 6 Tagen stattfand, erstens weil nur sehr wenige Hefezellen in diese groszen Kolben gebracht, zweitens weil dies gleich nach der Sterilisation geschah) wurden Proben der Flüssigkeiten analysirt. Die Zahlen

---

[1]) Zu Ehren des Herrn A. G. VORDERMAN, in Batavia, Inspector des Civilmedicinischen Dienstes auf Java und Madura, der sich so grosse Verdienste erworben hat um die Vermehrung unsrer Kenntnisse über die Arackfabrikation.

geben Prozente Glucose an; wenn auch ursprünglich Rohrzucker vorhanden war, so wurde alles auf Glucose umgerechnet.

	Kolben I.	Kolben II.	Kolben III.
Anfang des Versuchs	22,3	18,9	14,3
Nach 7 Tagen	8,7	6,9	1,25
„ 8 „	5,1	4,2	0,0
„ 10 „	3,3	0,8	—

Nach 10 Tagen hatte die Gährung auch in Kolben I und II vollständig aufgehört.

Bei der Gährung entstanden auszer Alcohol und Kohlensäure auch Glycerin und Bernsteinsäure. Als der Alcohol abdestillirt wurde, erhielten wir einen Arack mit einem sehr feinen Geruch und Geschmack. Dieser Arack enthielt ein wenig Aldehyd, und 0,113 pCt. Aethylacetat, aber keine freie Säure und ebensowenig Methyl- oder Amylalcohol.

Es sei uns gestattet, hier darauf hinzuweisen, dasz Saccharomyces Vordermannii für die Praxis von Anbelang ist, da man, wenn mit Reinkulturen dieser Art gearbeitet wird, im Stande ist, einen sehr feinen Arack zu fabriciren, der nicht fuselhaltig ist (während der Arack des Handels immer etwas Fusel enthält). Dabei verläuft die Gährung rasch, in 3 bis 4 Tagen und ungefähr 18 bis 19 pCt. Zucker werden in Alcohol und Kohlensäure verwandelt.

Als Stickstoffnahrung (die andern Nährsalze sind schon in der Melasse anwesend) kann man dann schwefelsaures Ammon verwenden. Aus dem oben Mitgetheilten ist schon zu sehen, dasz in den chinesischen Arackfabriken Batavia's die Stickstoffnahrung aus dem Reis des Tapej herstammen musz.

Chlamydomucor Oryzae.

Dieser dextrosebildende Pilz, welcher im Ragi gefunden wird, läszt sich leicht cultiviren, sowohl in flüssigen als auf festen Substraten. Wenn man eine der obengenannten, stark lichtbrechenden gelben Kugeln in einen Tropfen Nährlösung auf ein Deckglas bringt, kann man leicht die Keimung beobachten. Es entsteht einem sehr schnell wachsendes, hellweiszes Mycelium, dessen Fäden eine Dicke haben, welche im Allgemeinen zwischen 15 und 25 μ variirt. Dieses Mycel ist einzellig, Querwände werden nicht gefunden. Es enthält einen ziemlich dicken, protoplasmatischen Wandbeleg und eine zentrale Vacuole, welche oft von Plasmasträngen und-Platten durchzogen wird.

Nur an den äuszersten jüngsten Spitzen der Fäden wird das Protoplasma mehr schaumig, indem hier eine Menge Vacuolen gefunden werden. Das Mycelium befestigt sich auf dem Substrat mit dünneren rhizoidähnlichen Seitenzweigen, welche in Figur 11 und 12 (11 bei schwacher Vergröszerung, wobei der Zellinhalt nicht mitgezeichnet ist) abgebildet sind. Auch diese Rhizoiden enthalten keine Querwände.

In etwas älteren Stadien bilden sich an diesem Mycelium Chlamydosporen. Bisweilen findet man diese in einer Reihe hinter einander liegen (Fig. 13, 15) wobei dann die verschiedenen Gemmen eine sehr verschiedene Grösze haben können; oder die Gemmen liegen ganz isolirt, oder zu zwei oder drei hintereinander, und diese wieder durch todte, leere Mycelstücke von weiteren Gemmen getrennt (Fig. 15). Es scheint, als wenn bei der Gemmenbildung ein Theil des Protoplasts sich zusammenzieht und durch Querwände abgrenzt (das zeigt sich z. B. in Fig. 16, wo eine Gemme entstanden ist an einer Verzweigungsstelle eines Fadens). Darauf findet eine Vacuolentheilung statt, wodurch der Inhalt ganz schaumig wird (die obere Gemme der Fig 14). Zuletzt wird das Protoplasma so stark lichtbrechend, dasz von dem Inhalt nichts mehr zu unterscheiden ist. Indessen kann man durch Plasmolyse mit 10 pCt. eosinhaltiger Salpeterlösung das Protoplasma zum Absterben bringen, wobei die Vacuolen als farblose Blasen sichtbar werden. Bisweilen sind die Gemmen nicht oder nur wenig dicker wie der ursprüngliche Faden aus dem sie entstanden sind (Fig. 13), in anderen Fällen werden sie beinahe kugelförmig (Fig. 15). Reife Chlamydosporen haben eine dicke Zellhaut und enthalten Glycogen, was sich mit Jodkalium-Jodlösung nachweisen läszt.

Bildung von Sporen, Conidiën oder sonstwelche Fructification wurde nicht beobachtet, welche Mühe wir uns auch gaben dieselbe hervorzurufen und unter welchen verschiedenen Bedingungen wir den Pilz auch cultivirten. Nur fanden wir einige Male in Agarkulturen Lufthyphen, welche senkrecht in die Höhe wuchsen und sich an ihrer Spitze blasenförmig erweiterten, wie in Fig. 17 gezeichnet ist. Es sammelte sich viel Protoplasma in der Blase an, während die Vacuole in verschiedene kleinere Vacuolen getheilt wurde. Weiter entwickelten sich diese Blasen aber nie.

Aus dem hier Mitgetheilten wird wahrscheinlich schon klar sein, dasz der Pilz zu den Phycomyceten gehört und zwar eine Mucorart zu sein scheint, — oder weinigstens einer verwandten Gattung angehört — welche das Vermögen, Sporangien zu bilden, verloren hat. Höchstens würden diese Sporangien nur unter ganz besonderen,

uns noch unbekannten Umständen gebildet werden. Die oben beschriebenen Blasen scheinen uns ein mislungener Versuch, solche Sporangien auszubilden. Der Pilz vermehrt sich also nur durch Chlamydosporen und wird daher wohl am besten mit dem BREFELD'schen Namen Chlamydomucor angedeutet. Als Speciesnamen gebrauchen wir dann, weil er auf Reis vorkommt, *Chlamydomucor Oryzae.*

In der „levure chinoise" kommt, nach der Beschreibung CALMETTE's [1]), ein ganz ähnlicher Pilz vor, dessen systematische Stellung derselbe aber nicht erkannt hat, weshalb er eine neue Gattung dafür aufstellt: Amylomyces. Es scheint uns besser hier keinen neuen Namen einzuführen, weshalb sein Pilz also nicht heiszen musz Amylomyces Rouxii, sondern Chlamydomucor Rouxii. Auch dieser Pilz wird auf Reis gefunden, es scheint aber eine andere Art zu sein als diejenige, welche auf Java vorkommt. Denn wenn auch seine Beschreibung nur ganz kurz ist, so giebt Er doch einige Eigenschaften an, die bei unsrem Pilz anders sind. So bildet C. Rouxii Alcohol, unsre Art nicht; ebenso invertirt C. Oryzae keinen Rohrzucker, was beim Pilz aus Hinter-Indiën wohl der Fall ist. Auch bei der Wirkung auf Reis zeigen sich Verschiedenheiten, wenn nicht vielleicht dasjenige, was CALMETTE Reis nennt, eigentlich Oryza glutinosa ist.

Bevor wir jetzt etwas näher die physiologischen Eigenschaften von C. Oryzae beschreiben, wollen wir erst noch einen zweiten Pilz studiren, der auch auf Reis gefunden wird, der physiologisch sehr viel Uebereinstimmung mit Ersterem zeigt, der aber Sporangien und Chlamydosporen bildet. Wir werden sehen, dasz es nicht ganz ausgeschlossen ist, dasz dieser Pilz und Chlamydomucor Oryzae eigentlich zu einer Art gehören.

RHIZOPUS ORYZAE.

Wie oben schon mitgetheilt wurde, erhielten wir, als wir selbst Ragi bereiteten, noch einen zweiten Pilz auszer Chlamydomucor Oryzae, der ebenfalls im Stande war aus Reisstärke Dextrose zu bilden. Dieser Pilz wurde isolirt und weiter cultivirt; seine Beschreibung lassen wir hier folgen.

Das Mycelium des Pilzes, welches einen Durchmesser hat, der von 10—25 μ variiren kann, ist einzellig, sodasz keine Querwände gefunden werden. Es enthält einen sehr dicken protoplasmatischen Wandbeleg und einen centralen Saftraum, der indessen oft durch Plasmaplatten und Fäden durchzogen wird. Es ist anfangs

---

[1]) CALMETTE, l. c. p. 610, 611.

leuchtend weisz, später wird die Zellhaut (besonders der Rhizoiden und Sporangienträger) aber oft braun gefärbt. Die Verzweigung im Innern eines Nährsubstrats (sei dies flüssig oder fest) geschieht wie bei vielen anderen Mucorineen, indem in der Nähe einer Fadenspitze ein neuer Seitenzweig entsteht.

Ganz anders und sehr eigenthümlich ist aber die Verzweigung des Luftmycels. Dort finden wir nämlich eine kranzförmige Verzweigung, wie in Fig. 18 abgebildet ist. Der untere Faden verzweigt sich bei *a* in 5 neue Hyphen, welche jedoch nicht gleich alt sind. Das Alter ist durch Ziffern angegeben, wobei 1 den jüngsten, 5 den ältesten Zweig darstellt. Die Hyphen 3, 4 und 5 sind an ihren Spitzen wieder verzweigt. Dieses ist bei 5 gezeichnet, wo ein ganz langer Theil des Fadens nur durch Punktirung angegeben ist, weil das Internodium *a b* zu grosz für die Zeichnung war (die Grösze desselben betrug 4,1 mM). Wir sehen also bei *b* wieder eine ähnliche kranzförmige Verzweigung.

Wenn man den Pilz derart zieht, dasz das Mycelium sich nach allen Seiten frei entwickeln kann, so sieht man, dasz ein Theil positiv geotropisch gegen die Erde wächst, und sich in der oben angegebenen Weise verzweigt, während die Spitzen der Hyphen blind enden. Ein anderer Theil ist negativ geotropisch und hier bilden sich an den oberen Spitzen der Hyphen Sporangien. Entweder kann dies derart geschehen, dasz alle Aeste in Sporangien endigen, wie in Fig. 19, wo also das Wachsthum des Fadens beendet ist, oder einige der Verzweigungen enden in Sporangien, wie bei 5 in Fig. 20, und daneben entstehen eine oder mehrere Hyphen (in Fig. 20 zwei), welche weiter wachsen können. Diese negativ-geotropischen Mycelfäden sind ziemlich fest, und da sie sich gegenseitig stützen, können sie sich ziemlich weit vom Substrat entfernen. In einem Fall fanden wir die Endsporangien 14 cM. oberhalb der Nährlösung.

Hiermit ist jedoch die Wachsthumsart dieses Pilzes nicht erschöpft. Bei der Oberfläche eines Nährsubstrats (möge dieses flüssig oder fest sein) bildet er nämlich Ausläufer, welche wie bei Rhizopus bogenförmig emporwachsen, und wo sie das Substrat wieder erreichen, einen Büschel Rhizoiden treiben, während sich in der Luft ein oder mehrere Sporangienträger erheben. Fig. 21 und 22 stellen Fälle dar, wo nur ein einziges Sporangium aus dem Knoten hervorwächst, in Fig. 23 sehen wir deren zwei, in Fig. 24 drei von verschiedenem Alter, während sich eben ein junger Ausläufer dabei bildet. In dieser Weise kann man das Mycel sich auch wieder ziemlich weit von dem Nährsubstrat entfernen lassen, z.B. an Glasplatten entlang.

Einige abnorme Verzweigungsfälle mögen hier noch kurz erwähnt werden.

In Fig. 25 ist ein Sporangienträger abgebildet, der an seiner Spitze dichotomisch verzweigt ist, und von zwei ungleichaltrigen Sporangien abgeschlossen wird.

In Fig. 26 trägt ein unverzweigter Sporangiënträger zwei schon entleerte Sporangiën. Bisweilen entstehen in dem schon angelegten Sporangium keine Sporen, sondern gehen neue Hyphen daraus hervor, welche an ihrer Spitze ein Sporangium bilden (Fig. 27 und 28). In Fig. 29 ist ein ähnlicher Fall abgebildet, wo aber die Ursache dieser Erscheinung leicht ersichtlich ist. Denn hier war der Sporangiënträger umgeknickt, deshalb entstanden aus dem Sporangium drie Träger mit neuen Sporangiën, aus dem ursprünglichen Sporangiënträger deren zwei.

Die Sporangiën sind dunkel gefärbt, bräunlich grauschwarz. Sie haben eine Columella, welche einer Apophyse aufsitzt (Fig. 19, 22, 23, 24, 25, 26) und etwas birnförmig ist. Die Sporen werden entleert durch Zerflieszen der Sporangiënwand (welche meistens besetzt ist mit kleinen Krystallen von oxalsaurem Kalk) wobei oft ein Basalkragen zurückbleibt (Fig. 23, 25, 29). Die Columella wird später hutpilzartig umgestülpt. Die Sporen sind leicht gräulich gefärbt, mit etwas eckigem Umrisz (Fig. 30). Die Sporangiën können eine sehr verschiedene Grösze besitzen, je nachdem viel oder wenig Nahrung vorhanden ist. Die Grösze der Sporen wechselt dabei aber wenig, wohl ihre Anzahl. Bei gutgenährten Pilzen kann man bis folgende Abmessungen der Sporangiën finden: Länge 175 μ, Breite 167 μ, Höhe der Apophyse 35 μ, Durchmesser der Sporangiënwandbasis 87 μ; Columella lang 120 μ, breit 100 μ. Die Grösze der Sporen wechselt von 3, 5 bei 8 μ, bis zu 7 bei 5 μ Durchmesser.

Welche Mühe wir uns auch gaben, Zygosporenbildung hervorzurufen, dieselbe wurde nicht beobachtet, ebensowenig tritt Hefebildung ein. Wenn man den Pilz zwingt, in Nährlösung untergetaucht zu leben, so tritt Gemmenbildung ein. Diese entstehen schon im hängenden Tropfen, wo das Mycelium im Tropfen wächst, während es, sobald es an die Luft kommt, zur Sporangiënbildung übergeht. Diese Chlamydosporen sind viel kleiner als diejenigen von Chlamydomucor Oryzae, sie entstehen aber auch an den dünnen untergetauchten Hyphen des Pilzes. Uebrigens haben sie viel Aehnlichkeit mit denen von Chlamydomucor, wie ein Blick auf die Fig. 31, 32, 33 und 34 wohl zur Genüge lehren wird; eine weitere Erklärung ist wohl überflüssig. Wenn man eine solche Gemme zur Fortpflanzung des Pilzes benutzt, entstehen wieder in der gewöhnlichen Art

Sporangiën. Dasz übrigens auch an anderen Stellen des Pilzes Chlamydosporen auftreten können, beweist Fig. 23, wo eine solche bei *g* in der Mitte eines Ausläufers entstanden ist, während dieses Internodium weiter durch eine Zellhaut *w* von dem Knoten abgegrenzt ist.

Fragen wir jetzt nach der systematischen Stellung unsres Pilzes. Wenn man nur auf das Luftmycel mit seinen verticillirten Zweigen und Sporangiën achtet, so würde man den Pilz in die Gattung Mucor unterbringen müssen, und zwar in der Nähe von M. corymbifer, pusillus und corymbosus [1]). Indessen müszte andererseits der Pilz in die Gattung Rhizopus gebracht werden, wenn man nur auf die Ausläufer achtet. Offenbar haben wir hier also eine Uebergangsform zwischen Mucor und Rhizopus, wobei wir wohl annehmen müssen, dasz die Ausläufer mit Rhizoïden und Sporangiën entstanden sind aus den verticillirten Luftmyceliën. Solche Uebergangsformen waren bis jetzt unbekannt; sagt doch z. B. noch der jüngste Monograph der Mucorineae, ALFR. FISCHER [2]): „Durch die scharf gegliederten Ausläufer halte ich diese Gattung (i. e. Rhizopus) für wohl charakterisirt; ihre Wiedervereinigung mit Mucor, wie SCHRÖTER gethan, nicht gerechtfertigt. Sie bildet mit der folgenden Gattung Absidia eine kleine Gruppe, die durch die scharf gegliederten Ausläufer und die ebenso scharf bestimmten Ursprungsstellen der Sporangiënträger ausgezeichnet ist und allen andern Mucorineen gegenübersteht".

Wir waren versucht, also zu dem Schlusz zu kommen, dasz es besser sei, die Gattung Rhizopus zu streichen. Indessen würde das doch eigentlich nur auf einen Wortstreit auslaufen. Da das typische Merkmal von Rhizopus, die Ausläufer, vorhanden ist, dabei auch die Sporangiën sehr stark an diese Gattung erinneren, so bringen wir unsren Pilz zu dieser Gattung und nennen ihn, weil er auf Reis gefunden wird, *Rhizopus Oryzae*.

Rhizopus Oryzae ist auch interessant, wenn man den Pilz betrachtet im Lichte des BREFELD'schen Systems. Bekanntlich leitet BREFELD die Carpoasci ab von den carposporangischen Zygomyceten, den Rhizopeën und Mortiërelleën [3]); an der unteren Stufe dieser

---

[1]) Diese Spezies sind uns nur bekannt aus den Beschreibungen von A. FISCHER in RABENHORST's Kryptogamen-Flora Band I; IV Abth., Phycomycetes 1892 p. 200—202.

[2]) FISCHER l. c. p. 229.

[3]) BREFELD, Untersuchungen aus dem Gesammtgebiete der Mykologie. Heft IX, 1891 p. 75. Heft X, 1891 p. 354.

Reihe würde dann Rhizopus Oryzae stehen, der ein Bindeglied darstellt zwischen den exosporangischen und den carposporangischen Zygomyceten. Vielleicht könnten auch noch andere Formen der Zygomyceten von unserem Pilz abgeleitet werden; wir wollen aber diese Betrachtungen nicht weiter ausführen, da wir alsdann ganz das Gebiet der Speculation betreten würden.

Betrachten wir jetzt noch einen Augenblick die beiden Pilze Rhizopus Oryzae und Chlamydomucor Oryzae in ihrem gegenseitigen Verhältnisz. Es ist klar, dasz letzterer ein Pilz ist, der die erbliche Eigenschaft Sporangiën zu bilden, wenn nicht vollkommen, so doch theilweise eingebüszt hat.

Wenn die sporangiënbildende Form noch erhalten ist, wäre es dann möglich, dasz dieses Rhizopus Oryzae wäre? Gegen diese Ansicht spricht: 1stens dasz die Chlamydosporen bei beiden Pilzen eine ungleiche Grösze haben, es könnte aber immerhin sein, dasz durch die fortwährende Fortpflanzung durch Gemmen, diese allmählich an Grösze zugenommen hätten; 2tens dasz es uns nicht gelungen ist, unter irgend welchen Culturbedingungen die Pilze in einander überzuführen. Für diese Ansicht spricht: 1 die Thatsache, dasz auch bei Rhizopus Oryzae, das Vermögen Sporangiën zu bilden, bisweilen theilweise unterdrückt ist, indem ein Sporangium erst wieder neue Zweige treiben musz, bis es zur Sporangiënbildung an den Enden dieser Hyphen kommen kann; 2 die physiologischen Eigenschaften der beiden Pilze, welche volkommen übereinstimmen, wenn man nur dazu bedenkt, dasz zur Bildung der Sporangiën viel organische Nahrung verbraucht werden musz. Wir werden die Frage nach der Zusammengehörigkeit der beiden Pilze hier offen lassen müssen, und werden auch unten nicht mehr darauf zurückkommen. Es bleibt uns also jetzt nur noch übrig die physiologischen Eigenschaften der Pilze zu behandeln.

Physiologische Eigenschaften von Chlamydomucor Oryzae und Rhizopus Oryzae.

Um den Stickstoffbedarf der beiden Pilze zu vergleichen, wurde eine stickstofffreie, dextrinhaltige Nährlösung hergestellt und in Kolben vertheilt. Jede zwei Kolben erhielten darauf eine andere Stickstoffnahrung, nämlich Pepton, Asparagin, Ureum, Schwefelsaures Ammon, Salpeter und Kaliumnitrat.

Von je zwei Kolben wurde der eine mit Chlamydomucor Oryzae, der andere mit Rhizopus Oryzae infizirt. Bei beiden Pilzen fing die Entwickelung zuerst an in der Asparagin- und der Ureumlösung,

etwas später in der peptonhaltigen Flüssigkeit und noch später in dem Kolben, worin sich schwefelsaures Ammon befand. Dasselbe Verhältnisz blieb später bestehen; das stärkste Wachsthum fand bei beiden Pilzen statt in den Asparagin- und Ureumlösungen, etwas weniger war es in der Peptonlösung, noch geringer in dem Ammoniumsalz, während Nitrate und Nitrite überhaupt nicht als stickstoffhaltige Nährstoffe benutzt werden können.

Die Kohlenstoffnahrung der beiden Pilze wurde in derselben Art untersucht, indem eine Lösung hergestellt wurde, welche die nöthigen Nährsalze, aber keine Kohlenstoffverbindungen enthielt. Nachdem sie in Kolben vertheilt war, wurden die Kohlenstoffverbindungen, deren Nährwerth zu untersuchen war, in je 2 Kolben gebracht. Einer dieser Kolben wurde dann nach Sterilisation mit Chlamydomucor infizirt, der Andere mit Rhizopus. Daraus ging hervor, dasz beide Pilze sich ganz genau in derselben Art verhielten. Von den untersuchten Stoffen wurden am liebsten als Kohlenstoffquelle benutzt Pepton und Dextrose, dann folgten in absteigender Reihe Essigsäure, Aethyl-Alcohol, Saccharose und Citronensäure (wobei bemerkt werden musz, dasz es einige Tage dauerte, bevor im Alcohol eine Entwickelung stattfand). Ein äuszerst geringes Wachsthum fand statt in Weinsteinsäure und Cellulose, aber ebenfalls als gar keine Kohlenstoffquelle vorhanden war, sodasz in diesen Fällen die Pilze wohl ihren eigenen Kohlenstoff verbrauchten. Dahingegen war in Benzoësäure nicht das geringste Wachsthum zu constatiren, sodasz diese Verbindung ganz bestimmt als Gift wirkte.

Saccharose wird von beiden Pilzen nicht invertirt; ebensowenig wird in Zuckerlösungen Alcohol gebildet. Milch wird von beiden Pilzen coagulirt unter Säurebildung. Die Bildung von Säure wurde u. a. bei Chlamydomucor Oryzae constatirt, indem eine Flüssigkeit in 2 Kolben vertheilt und dann sterilisirt wurde. In den einen Kolben wurde Chlamydomucor gebracht, in den anderen nicht. Nachdem der Pilz sich während 6 Tagen entwickelt hatte, wurde die Acidität bestimmt; dieselbe betrug (auf Milchsäure berechnet) in dem Kolben, worin der Pilz gewachsen war 0,1 pCt. mehr.

Wenn man die Pilze in einer Wasserstoffatmosphäre cultivirt, findet nur ein sehr geringes Wachsthum statt. Rhizopus bildet dabei fast gar keine Sporangiën, sobald man aber Sauerstoff zutreten läszt, fängt augenblicklich eine reichliche Sporangiënbildung an.

Die Wirkung von Chlamydomucor und Rhizopus auf Stärke.

Wie schon mehrmals erwähnt wurde, bilden diese beiden Pilze aus

Klebreis Dextrose. Bei einigen Vorversuchen stellte sich heraus, dasz aus Kartoffeln nur sehr wenig Dextrose gebildet wurde, ebenso ziemlich wenig aus Reis, dagegen eine grosze Menge aus Brot und Klebreis.

Wir hatten hier also eine Wirkung, welche nicht einfach bestand aus Hydrolisirung der Stärke. Es schien uns vielmehr aus den Versuchen die Wahrscheinlichkeit hervorzugehen, dasz die eigentliche Stärkesubstanz, die Granulose, nicht von den Pilzen angegriffen wird, dagegen wohl Dextrin, Amylodextrin, Erythrogranulose, und die weiteren Zwischensubstanzen zwischen Stärke und Zucker. In der That wurde eine Dextrinlösung sehr bald in Dextrose umgewandelt. Um unsere Ansicht zu motiviren, seien zunächst einige historische Bemerkungen über Klebreis und die Zusammensetzung der Stärke vorangeschickt.

Bekanntlich enthält Klebreis, Oryza glutinosa (auf Java „Ketan" genannt) eine Stärke-Art, welche sich mit Jod nicht blau sondern rothbraun färbt. Nach den Untersuchungen von SHIMOYAMA [1]) enthält der japanische Klebreis gewöhnliche Stärke, lösliche Stärke, Dextrin und vielleicht Maltose. Er giebt dabei an, dasz auch andere Stärkearten lösliche Stärke enthalten, wie z. B. Kartoffelmehl und gewöhnliches Reismehl, und sucht darin einen Unterschied zwischen den Stärkearten. Zu gleicher Zeit erschienen Untersuchungen von DAFERT [2]) über Klebreis und Klebhirse, welcher die lösliche Stärke für Erythrogranulose oder Erythrodextrin ansieht. Eine mehr allgemeine Betrachtung der Stärkearten, welche sich mit Jod roth färben, erschien von der Hand ARTHUR MEYER's [3]). Derselbe hält die lösliche Stärke für Amylodextrin, und kommt als Folge seiner Untersuchungen zu dem Resultat, dasz die verschiedene Farbe, welche die Stärkekörner mit Jod annehmen, verursacht wird durch die gröszere oder geringere Menge Dextrin und Amylodextrin, welche sie enthalten. Dasz es Stärkekörner giebt, welche sich mit Jod nicht blau sondern roth färben, war übrigens schon länger bekannt, zuerst

---

[1]) YUNICHIRO SHIMOYAMA. Beiträge zur Kenntnisz des japanischen Klebreises Mozigome. Inaug. Diss. d. Univ. Straszburg 1886. Uns nur bekannt durch das Referat in JUST's Botan. Jahresbericht.

[2]) F. W. DAFERT. Beiträge zur Kentnisz der Stärkegruppe. Landw. Jahrb. 1886, p. 259—276. Daneben kurze Mittheilungen in Sitzber. der Niederrh. Gesellsch. für Natur- und Heilkunde in Bonn. 1885, p. 337 und Ber. d. Deutschen Bot. Gesellsch. Bd. 5. 1887. p. 108.

[3]) A. MEYER. Ueber Stärkekörner, welche sich mit Jod roth färben. Ber. d. D. Bot. Gesellsch. 1886. Bd. IV. Heft 8 und Bd. V. 1887, p. 171.

durch Angaben von C. NÄGELI [1]) und A. GRIS [2]). Später wurden von TREUB [3]) ein paar Fälle mitgetheilt, während E. RUSSOW [4]) eine ganze Reihe angiebt. Nicht allein ARTHUR MEYER und SHIMOYAMA, auch andere Forscher wie z. B. BOURQUELOT [5]) kommen zu dem Resultat, dasz die Stärkekörner nicht aus einer einzigen Substanz zusammengesetzt sind, sondern eine Reihe verschiedener Kohlenhydrate enthalten, wobei dann auch die Stärkekörner der verschiedenen Pflanzen eine verschiedene Zusammensetzung haben. Dasz die Stärke aus einem Gemisch von Stärkecellulose und Granulose besteht, die ursprüngliche Meinung NÄGELI's, ist aber ausgeschlossen; diese Meinung ist schon längst von HUGO DE VRIES [6]) und ARTHUR MEYER [7]) widerlegt.

Wir müssen also als wahrscheinlich annehmen eine Zusammensetzung der Stärke aus Granulose und daneben aus wechselnden Mengen Dextrin und den zwischenliegenden Substanzen Amylodextrin, Erythrodextrin, Erythrogranulose, u. s. w. Nun sehen wir, dasz unsere Pilze Dextrin und Amylodextrin ganz in Dextrose überführen; ebenso wird auch fast die ganze Stärkemasse des Klebreises in Dextrose übergeführt, während bei anderen Stärkearten wechselnde aber viel kleinere Quantitäten Dextrose entstehen, wobei immer ein gewiszer Theil der Stärke nicht angegriffen wird. Daraus schlossen wir, dasz unsere Pilze die eigentliche Granulose der Stärke nicht in Zucker umbilden können, dasz wir hier also auch in diesen Pilzen ein Mittel besitzen, die Zusammensetzung der Stärke zu bestimmen. Wir wollen dies näher erörtern, nachdem wir unsere Versuche beschrieben haben. Erstens wurden in Reageuzröhrchen je 8 Gramm Klebreis gebracht und 8 cM^3 Wasser, und diese wurden sterilisirt. Darauf wurde die Hälfte infizirt mit Chlamydomucor, die andere Hälfte mit Rhizopus, es wurde nur die obere Schicht Klebreiskörner

---

[1]) C. NÄGELI. Die Stärkekörner, 1858. p. 192, 193.

[2]) A. GRIS. Note sur la fécule du riz. Bull. de la Soc. bot. de France 1860. T. 7. p. 876. Nach A. MEYER.

[3]) M. TREUB. Notes sur l'embryogénie de quelques Orchidées. Kon. Akad. v. Wet. Amsterdam. 1879. p. 22.

[4]) E. RUSSOW. Ueber die Auskleidung der Intercellularen. Sitzber. der Dorpater Naturforschergesellschaft. 23 Aug. 1884. VII Jahrg. Heft 1. Nach A. MEYER.

[5]) E. BOURQUELOT. Comptes Rendus. T. CIV. 1887. p. 71—74. T. CVI. 1887. p. 177—180.

[6]) HUGO DE VRIES. Over de scheikundige samenstelling van zetmeelkorrels. Maandblad voor Natuurwetenschap. 1885. p. 56.

[7]) A. MEYER. Ueber die wahre Natur der Stärke-Cellulose NÄGELI's; Bot. Ztg. 1886. p. 697. 713.

verzuckert; als die Luft nachher auch zu den mehr unten gelegenen Klebreiskörnern kommen konnte, ging die Dextrosebildung weiter; indessen wirkte der Pilz doch nur etwa auf die obere Hälfte des Reises. Die gebildete Zuckermenge war demnach auch sehr gering. Sie betrug z. B.

	Für Chlamydomucor Oryzae.	Für Rhizopus Oryzae.
Nach 2 Tagen	0,35 Gramm Dextrose	0,13 Gramm Dextrose
„ 3 „	0,36 „ „	0,17 „ „
„ 4 „	0,63 „ „	0,63 „ „
„ 5 „	0,60 „ „	0,40 „ „

Ganz anders wurden die Resultate, als der Luft genügend Zutritt verschafft wurde zu den Kulturen, der Klebreis also in dünner Schicht auf dem Boden von Glasschalen ausgebreitet wurde. Jetzt war in etwa 4 Tagen die Verzuckerung vorbei, als 20 Gr. Klebreis mit 25 cM^3 Wasser erst sterilisirt und dann mit einer kleinen Menge Chlamydomucor und Rhizopus bestellt wurden. Die Maximumquantität Dextrose welche sich bildete, war jetzt für Chlamydomucor in den verschiedenen Versuchen gleich, wenn auch anfangs die Zuckerbildung nicht immer ganz gleichartig verlief, was hauptsächlich verursacht wurde durch die Unmöglichkeit immer mit einer gleich groszen Pilzmenge zu infiziren. Bei Rhizopus Oryzae zeigten sich aber gröszere Unregelmäszigkeiten; erstens war die Maximalmenge der gebildeten Dextrose geringer wie bei Chlamydomucor, und zweitens ergaben sich Differenzen, welche, wie aus den Kulturen ersichtlich war, hervorgerufen wurden durch die Menge von Sporangien, welche gebildet waren, da nachher ebensowenig Stärke übriggeblieben war wie bei Chlamydomucor. Je mehr Sporangien, desto weniger Zucker. Die Dextrose wird also hauptsächlich zur Sporangienbildung verbraucht, und deshalb ist die Maximalmenge des gebildeten Zuckers auch wohl geringer, wie bei Chlamydomucor. Wir lassen hier zwei Versuche folgen. Die mit denselben Ziffern angedeutet, wurden zu gleicher Zeit angestellt, sodasz die äuszeren Bedingungen: Temperatur etc. gleich waren. Die Zahlen geben die gebildete Dextrosemenge in Gramm an:

	Chlamydomucor Oryzae.		Rhizopus Oryzae.	
	I.	II.	I.	II.
Nach einem Tage	0,7	—	0,2	—
„ 2 Tagen	9,6	3,85	2,8	3,13
„ 3 „	12,5	11,11	8,6	7,43
„ 4 „	12,8	12,50	10,59	10,42
„ 5 „	—	12,50	—	10,00
„ 6 „	—	12,50	—	10,40

In einem anderen Falle wurde in dem Restant Klebreis die übriggebliebene Stärke bestimmt; dieselbe betrug in dem Versuch bei Chlamydomucor 2,75 pCt., bei Rhizopus 2,81 pCt. der Gesammtmenge des Klebreises, während an Dextrose gebildet war 63,45 pCt. bei dem ersten und 47,9 pCt. bei dem zweiten Pilz. Jetzt wurden ähnliche Versuche mit Reis angestellt. Dabei ergab sich ganz derselbe Unterschied zwischen Chlamydomucor und Rhizopus, welcher also nicht weiter besprochen zu werden braucht. Es zeigte sich aber auch, dasz die Stärke nicht bei allen Reisarten dieselbe Zusammensetzung hat; so erhielten wir z. B. bei einer ganz ordinären Reissorte folgende Mengen Dextrose (in Gramm) aus 20 Gramm Reis:

	Chlomydomucor Oryzae.	Rhizopus Oryzae.	
Nach 2 Tagen	2,7	2,6	
„ 4 „	7,7	5,5	
„ 6 „	8,2	6,25	
„ 8 „	8,5	4,35	(Menge Sporangiën).
„ 10 „	8,8	—	

Bei einer beszeren Reisart wurden folgende Zahlen erhalten (als auch wieder 20 Gramm Reis genommen wurden)

	Chlamydomucor Oryzae.	Rhizopus Oryzae.
Nach 3 Tagen	6,25	3,84
„ 6 „	7,59	3,75

Da die Sporangiënbildung bei Rhizopus die Zahlen undeutlicher machte, wurden die weiteren Versuche nur angestellt mit Chlamydomucor Oryzae. Hierzu dienten noch Arrowroot, Kartoffelstärke, Weizenmehl, und Maismehl. Die Maximumquantitäten Dextrose, welche in den Versuchen gebildet wurden (wobei immer mit unbedeutender Differenz bei den verschiedenen Versuchen dieselben Maximalmengen gefunden wurden) waren:

Für	Arrowroot	16,0	pCt.	des Stärkegewichts.
„	Kartoffelstärke . .	7,6	„	„ „
„	Weizenmehl	29,0	„	„ „
„	Maïsmehl	8,0	„	„ „

Natürlich wurden diese Stärkearten mit Wasser gemischt, das die nöthigen anorganischen Nährsalze für den Pilz enthielt.

Ein Versuch, der unsre Meinung über die Wirkung des Pilzes bestätigte, war folgender: Es wurden 2 Gramm Arrowroot gemischt

mit 4 Gramm Wasser (A) 2 Gramm Arrowroot, 2 Gramm Amylodextrin (hergestellt nach der Methode von SOLOMON) mit 8 Gramm Wasser (B) und 2 Gramm Amylodextrin mit 4 Gramm Wasser (C). Das Wasser enthielt etwas phosphorsaures Kali, schwefelsaure Magnesia und $^1/_2$ pCt. schwefelsaures Ammon. Nach der Sterilisation wurden die 3 Mischungen infizirt mit Chlamydomucor Oryzae. Es war entstanden als Maximalmenge Dextrose (nach 10 Tagen):

bei A 0,31 Gr. bei B 1,63 Gr. bei C 1 37 Gr.

Wie man sieht, ist die Dextrosemenge bei B gerade die Summe derjenigen bei A und C, was nach unsrer Auffassung zu erwarten war.

Ein Theil der gebildeten Dextrose wird jedenfalls von dem Pilz verathmet; das geht schon daraus hervor, dasz die Dextrosemenge kleiner wird, nachdem das Maximum erreicht ist; aber auch z. B. aus der Ziffer oben für C angegeben 1,37 Gramm aus 2 Gr. Amylodextrin, während doch, wenn aller gebildete Zucker gefunden wäre, 2,22 Gr. hätte entstehen müssen; hiervon ist also nur 61,7 pCt. zurückgefunden.

Beim Klebreis hatten wir erhalten 63,45 pCt. Dextrose, während noch etwa 2,75 pCt. Stärke übriggeblieben war, was übereinstimmt mit 3,05 pCt. Dextrose; durch chemische Mittel konnte aus Klebreis 92,6 pCt. Zucker gebildet werden; hier war also nur 71,6 pCt. zurückgefunden. Machen wir eine kleine Berechnung, um aus diesen Untersuchungen den ungefähren Gehalt der Stärke an Granulose abzuleiten, und nehmen wir dabei an, dass von der wirklich gebildeten Dextrosemenge nur 66,6 pCt. (das Mittel von 61,7 und 71,6 pCt.) zurückgefunden wird, so ergiebt sich:

	I. pCt. Stärke	II. Gefundene Dextrose.	III. Wirklich gebildete Dextrose.	IV. Aus III berechnet Dextrin und Amylodextrin.	V. Gehalt der Stärke an Dextrin und Amylodextrin.	VI. Gehalte der Stärke an Granulose.
Reis.....	75,00	44 pCt.	66 pCt.	59,4 pCt.	79 pCt.	21 pCt.
Arrowroot....	100	16 "	24 "	21,6 "	22 "	78 "
Kartoffelstärke	100	8 "	12 "	10,8 "	11 "	89 "
Weizenmehl..	75	29 "	43,5 "	39,15 "	52 "	48 "
Maïsmehl.....	70	8 "	12 "	10,8 "	15 "	85 "

Ferner enthält die Stärke des Klebreises (siehe oben) 2,75 Gr. Granulose auf 100 Klebreis, also (da der Klebreis 83,34 pCt. Stärke enthält) 3,3 pCt. auf 100 Stärke. Natürlich geben diese Zahlen nur eine ganz ungefähre Vorstellung von der Zusammensetzung einiger Stärkearten. Es wäre aber sehr gut möglich mit unserem Pilz sehr exacte wissenschaftliche Untersuchungen auszuführen, wenn man nicht die gebildete Menge Dextrose bestimmte, sondern die übriggebliebene Stärkemenge, also die Quantität Granulose, welche von dem Pilz nicht angerührt worden ist. Das haben wir ja auch für Klebreis gethan, sodasz die dafür gefundene Ziffer genau den Granulosegehalt angiebt.

Eine rein chemische Bestimmung wäre auch vielleicht noch möglich wenn es gelinge könnte, das Ferment aus einem der beiden Pilze zu isoliren. Dasz ein Ferment vorhanden, wurde durch Experimente nachgewiesen. Erst versuchten wir es mit der Methode von WIJSMAN [1]) indem wir Agarplatten herstellten, welche auszer den anorganischen Nährstoffen auch fein zertheiltes Klebreismehl enthielten. Hierauf wurde Chlamydomucor Oryzae gezogen und nach einiger Zeit auf die Platte eine verdünnte Jodlösung gegossen; die Platte färbte sich jetzt rothbraun; wäre ein Ferment in erheblichender Menge aus den Pilzfäden ausgeschieden, und in den Agar diffundirt, so würde um den Pilz herum eine farblose Zone sichtbar gewesen sein; diese war aber nicht vorhanden. Dasz ein Ferment vorhanden ist (und vielleicht später herausdiffundirt, aber dann ist die ganze Agarplatte verpilzt und die WIJSMAN'sche Methode nicht mehr anwendbar) ging aber aus folgendem Versuch hervor. Es wurde aus einer Klebreiskultur von Chlamydomucor ein Glycerinextract hergestellt, 100 cM^3 hiervon wurden mit 10 Gr. Amylodextrin gemischt und während einer Stunde gekocht um eventuell vorhandene Fermente zu zerstören (A); eine zweite ähnliche Mischung wurde hergestellt und nicht vorher gekocht (B) (das starke Glycerin verhinderte das Aufkommen von Pilzkeimen oder Bacteriën). Jetzt wurde der Glucosegehalt bestimmt; derselbe betrug

	bei A.	bei B.
Nach 5 Tagen	6,14 pCt.	6,90 pCt.
„ 9 „	6,10 „	7,24 „
„ 14 „	6,10 „	7,70 „

Bei A war natürlich beim Anfang des Versuchs ebensogut Zucker

---

[1]) H. P. WIJSMAN. De diastase beschouwd als een mengsel van maltase en dextrinase. Inaug. Diss. Amsterdam 1889.

vorhanden wie bei B, da die Klebreiskultur, aus der der Glycerinextract hergestellt war, Dextrose enthielt. Bei A, wo das Ferment vernichtet war, vermehrte sich aber die Zuckermenge nicht, im Gegensatz zu B.

Aus diesem Versuche geht also hervor, dasz ein Ferment in der Lösung anwesend war, welches offenbar aus Chlamydomucor ausgezogen war.

Wie schon oben gesagt, konnten wir diesen Untersuchungen nicht mehr Zeit widmen; daher sind sie in vieler Hinsicht so unvollständig. Wenn einmal eine genaue Methode ausgearbeitet ist, um mit unserem Pilz die Stärke zu untersuchen, liesze sich dieselbe wohl benutzen zur Untersuchung der Bildungs- und Lösungsvorgänge der Stärke im Pflanzenkörper.

Es möge hier noch einmal hingewiesen werden auf die grosze Uebereinstimmung, was die physiologischen Eigenschaften betrifft, zwischen Chlamydomucor Oryzae und Rhizopus Oryzae. Dasz unsre Pilze die Eigenschaft besitzen, Dextrose aus Stärke zu bilden, ist auch nicht eine ganz neue Eigenschaft bei den Phycomyceten, da ja eine ähnliche Erscheinung auch angetroffen wird bei Mucor alternans [1]).

---

[1]) Gayon et Dubourg. Annales de l'Institut Pasteur. I. 1887. p. 532.

Versuchsstation für Zuckerrohr in West-Java
Kagok-Tegal. April 1894.

FIGUREN-ERKLÄRUNG.

TAFEL I.

Fig. 1—4 Monilia javanica.

Fig. Verg.

1^{a-i}. 500/1. Formen der Hefezellen aus einer gährenden Flüssigkeit; bei *d*, *g* und *i* langgedehnt und unregelmässig, bei *e* und *f* zu Fäden anwachsend.

2. 350/1. Myceliumbildung der Hefe auf halbverzuckertem Klebreis. Am Rande des Körpers in Hefebildung übergehend; im Centrum etwas schematisirt.

3, 4. 730/1. Einzelne Hyphen aus einem Körper wie in Fig. 2 frei praeparirt.

Fig. 5—10. Saccharomyces Vordermannii.

5. 730/1. Bodensatzhefe aus einer eben in Gährung gerathenen Flüssigkeit.

6. 730/1. Hefe aus dem Schaum einer in voller Gährung befindlichen Flüssigkeit.

7. 730/1. Hefe, welche sich an der Grenze vom Gefäsz und von der Flüssigkeitsoberfläche gebildet hat in einer ein Paar Monate alten Kultur.

8. 350/1. Hefe von dem Rande einer einige Monate alten Agarkultur.

9. 730/1. Wie Fig. 8.

TAFEL II.

Fig. 10. Saccharomyces Vordermannii.

10. 730/1. Hefe auf Gypsblöckchen gezogen, welche Sporen gebildet hat.

Fig. 11—17. Chlamydomucor Oryzae.

11. 80/1. Theil des Myceliums mit Rhizoïdähnlichen Aesten. Inhalt nicht gezeichnet.

12. 350/1. Mycelium mit Rhizoiden. Der Protoplasmawandbeleg und die Vacuolen sind in der Figur gezeichnet.

Fig. Verg.

13. 350/1. Reihe von sechs Gemmen, hintereinander gebildet.

14. 350/1. Reihe von drei Gemmen, die obere noch jung, mit vielen Vacuolen, die unteren zwei erwachsen mit einem undurchsichtigen Protoplast.

15. 350/1. Gemmen zu zwei und drei zusammenliegend mit dazwischen gelegenen leeren Mycelstücken.

16. 350/1. Gemme entstanden an einer Verzweigungsstelle des Myceliums.

17. 350/1. Blasenförmig aufgetriebener Endfaden an einem Mycelium. Ob Versuch zur Sporangiënbildung?

FIG. 18–34. RHYZOPUS ORYZAE.

18. 80/1. Stück eines Luftmycels. Bei *a* hat die Hyphe 5 Zweige getrieben, deren Alter durch die Ziffern 1—5 angegeben wird; 3, 4 und 5 sind wieder verzweigt; das ist für 5 angegeben bei *b* (das Internodium ab war in Wirklichkeit lang 4,1 mM.) wo wieder ein Kranz von 5 Aesten gebildet ist.

19. 80/1. Endwirtel eines Luftmycels; jede der 4 Hyphen trägt an seinem Ende ein noch ungeöffnetes Sporangium.

TAFEL III.

20. 80/1. Knoten eines Luftmyceliums mit 5 Sporangiënträger (Inhalt der Sporangiën nicht gezeichnet) und zwei vegetativen Hyphen.

21. 12/1. An der Oberfläche eines Substrats kriechendes Mycelium mit Rhizoïden, Ausläufern und an jedem Knoten einem Sporangiënträger (die Hyphen sind zu dick gezeichnet).

22. 80/1. Aehnliches Sporangium, wie die der Fig. 21; noch ungeöffnet.

23. 80/1. Ausläufer mit einer Gemme *g* und Querwand *w*; am Knoten Rhizoïden und 2 schon entleerte Sporangiën, von denen nur die Columella mit einigen daran haftenden Sporen und der Basalkragen übrig sind.

24. 80/1. Ausläufer mit Knoten. Am Knoten Rhizoïden, ein junger Ausläufer und 3 Sporangiën verschiedenen Alters; nur in einem Sporangium sind erst die Sporen gebildet.

TAFEL IV.

25. 80/1. Verzweigter Sporangiënträger mit einem noch ungeöffnten und einem schon entleerten Sporangium.

Fig. Verg.

26. 350/1. Sporangiënträger mit zwei Sporangiën welche schon entleert sind; an der Columella haften schon einige Sporen.

27. 80/1. Sporangium, welches anstatt Sporen 3 neue Sporangiënträger gebildet hat.

28. 350/1. Aehnliches Sporangium wie das der Fig. 27 um die Anheftung der neuen Sporangiënträger sichtbar zu machen.

29. 160/1. Umgeknickter Sporangiënträger; an demselben sind zwei neue Träger mit jungen Sporangiën entstanden, aus dem alten Sporangium gehen 3 Sporangiënträger mit Sporangiën (zwei jungen, einem eben entleerten) hervor.

30. 500/1. Reife Sporen; nur der Umrisz ist gezeichnet.

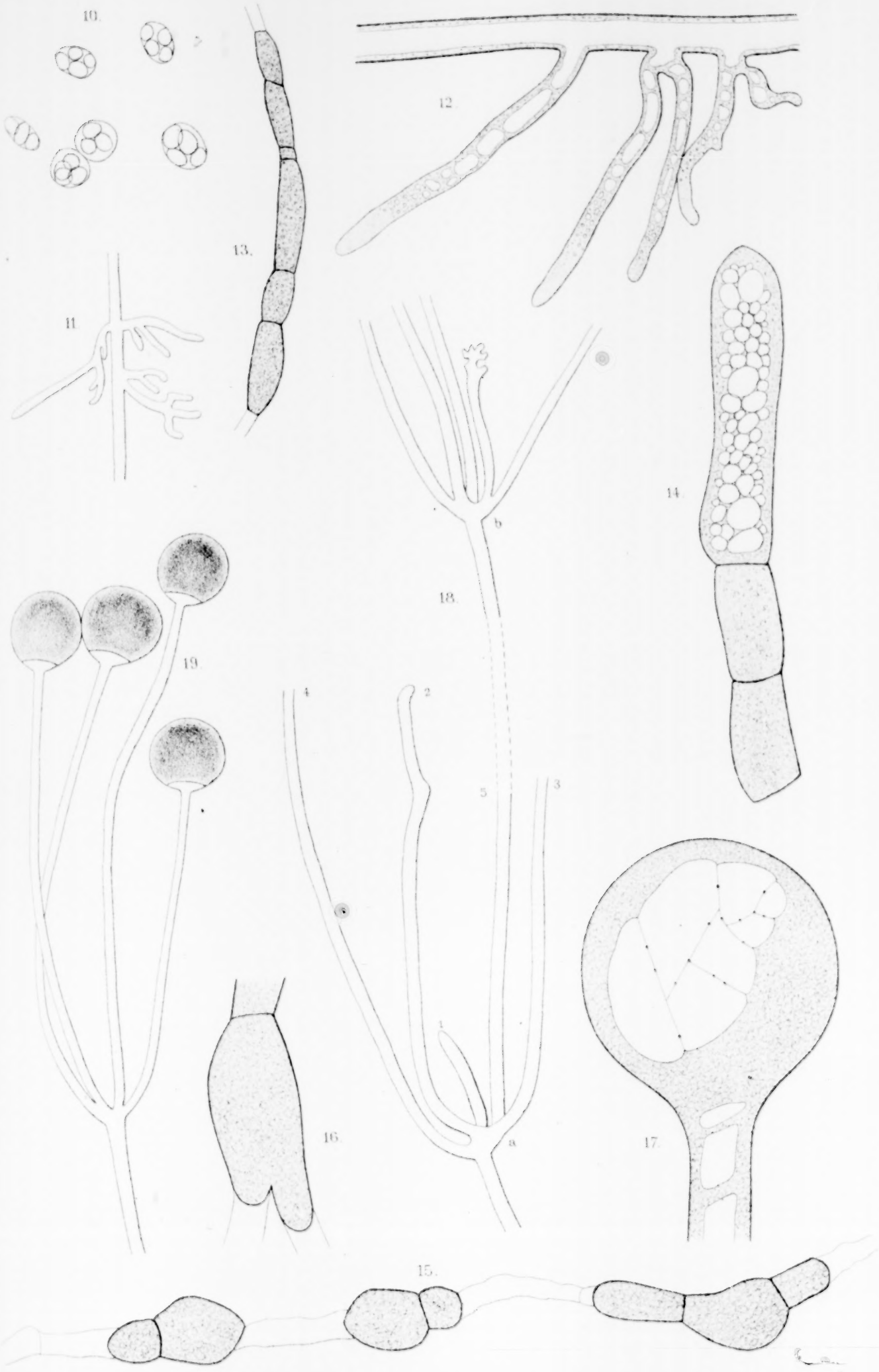
31. 730/1. Reife Chlamydosporen an einem untergetauchten Mycelium.

32. 730/1. Desgleichen; an der Chlamydospore sind zwei junge Myceläste befestigt.

33. 730/1. Reihe von drei Gemmen durch ein leeres Hyphenstück verbunden mit einer vierten Chlamydospore.

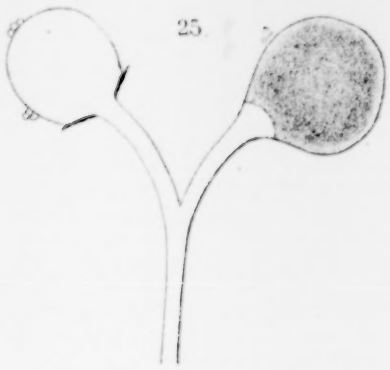
34. 730/1. Reihe von 5 hintereinanderliegenden Chlamydosporen.

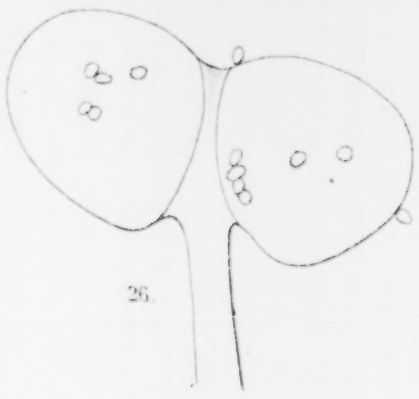
F. Went del. F.W.M.Trap impr. A.J.Wendel sculps.



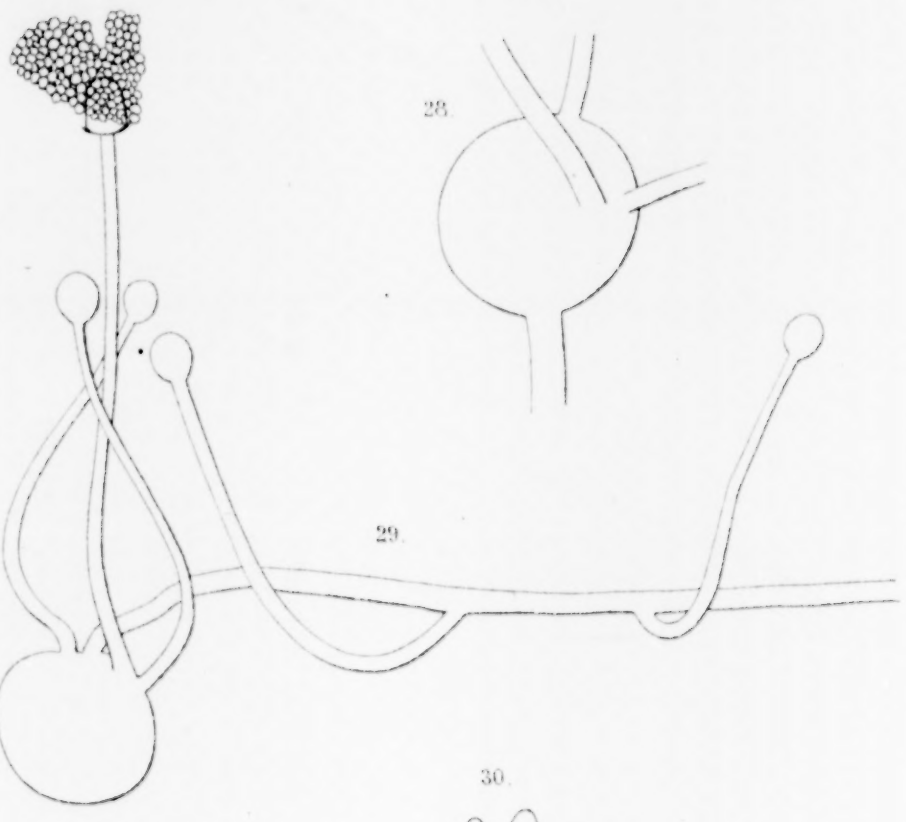
F. Went del. P.W.M. Trap impr. A.J. Wendel sculps.

F. Went del. P.W.M. Trap impr. A.J. Wendel sculps.


25.


26.

27.

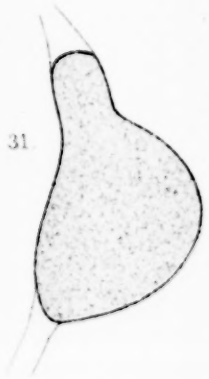

29.

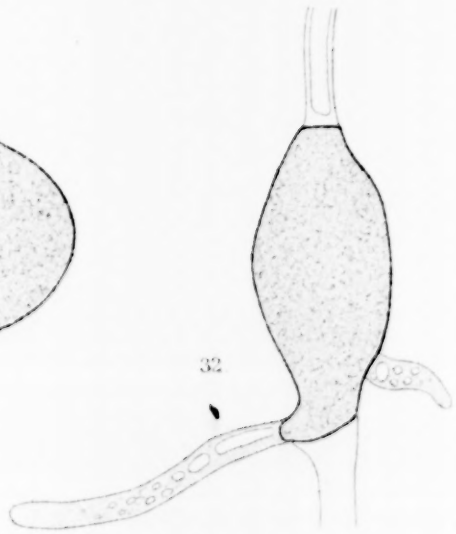
28.

33.

30.

34.


31.


32.

F. Went del. P.W.M. Trap impr. A.J. Wendel sculps.

VERHAND. KON. AKAD. V. WETENSCH. (2e Sectie) DL. IV.